九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

ヒト血液中ダイオキシン類の抽出・精製法の改良および油症息者血液中ダイオキシン類濃度

戸高，尊
社団法人日本食品衛生協会

平川，博仙
福岡県保健環境研究所

堀，就英
福岡県保健環境研究所

飛石，和大
福岡県保健環境研究所

他

https://doi.org/10.15017/19279

出版情報：福岡醫學雜誌. 96 (5), pp.185-191, 2005-05-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：

ヒト血液中ダイオキシン類の抽出・精製法の改良および油症患者血液中ダイオキシン類濃度

[1] 社団法人日本食品衛生協会
[2] 福岡県保健環境研究所
戸高　尊[1]，平川博仙[2]，堀　就英[2]，飛石和大[2]，飯田隆雄[2]

はじめに

1968年，九州北部を中心に西日本一帯で発生したカネミ油症事件は，国内最大の食品公害事件である．油症はpolychlorinated biphenyls (PCBs)，polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) およびpolychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) 等が混入したライスオイルを摂取したことにより生じた[1]．この症状は，これら化合物の残留性が極めて高いために，当初の予想を超えて，従来の医学的治療法で処置することが非常に困難であることが，やがて明らかになった．油症が発症してから30年以上が過ぎ，多くの患者で初期に見られたような特徴的な所見がほとんど消失している．しかしながら，患者は，今でもいくつかの自覚症状に悩まされている．近年，塩素系炭化水素による環境汚染が懸念され，地球的な規模で生態系を脅かしている事実が明らかになってきている．それゆえ，油症研究は，この病気の被害者のためにも，またPCDDs，PCDFs及びCo-PCBsによる暴露を受けている一般の人々にも重要である．

油症に関する広範囲な研究が油症研究グループにより行われてきた[1]．我々は，油症患者のダイオキシン類による人体汚染とその健康影響を把握する目的で，血液中PCDDs，PCDFsおよびCo-PCBs濃度の追跡調査を行って来た[2)~4)]．一般に，血液試料から正確にPCDDs，PCDFs及びCo-PCBs濃度を測定するのに，血液20-50 ml必要である[5]．しかしながら，患者の大部分は60歳以上の高齢者なので血液の採血量は制限される．したがって，患者の身体的負担を軽減させるため，5 g程度の血液量でPCDDs，PCDFs及びCo-PCBs濃度を正確に評価できる超高感度分析法の開発が必要である．加えて，現在汎用されている抽出・精製法は，操作が煩雑で測定に至るまでに長時間を要し，迅速な対応ができないという問題があった．近年，5 gの血液量でダイオキシン類濃度を正確に評価できる超高感度分析法および血液試料の前処理（抽出・精製）法を迅速化する方法について検討を行った．この方法は3つのステップから構成される，高速溶媒抽出装置（accelerated solvent extractor，ASE）による血液試料から脂肪の抽出；従来法の1/4スケールでのカラムクリーンアップ操作；大量注入装置（solvent-cut large volume injection system, SCLV）を装備した高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析法（high-resolution gas chromatography / high-resolution mass spectrometry，HRGC / HRMS）によるPCDDs，PCDFs及びCo-PCBs類の超高感度分析である．大量注入装置の装備によりHRGC / HRMSの相対感度は10倍以上向上した．その結果，5 gの血液量でもPCDDs，PCDFs及びCo-PCBs濃度の測定が可能となった．この方法を用いて，2001年に福岡県在住の油症患者78名から採取した血液中PCDDs，PCDFs及びCo-PCBs濃度を測定した[4]．

今回，新しい油症診断基準を策定するために，平成14年度から3年計画で全国油症患者血液中ダイオキシン濃度の追跡調査を含めた研究事業が立ち上げられた．初年度は，約400人の患者血液中ダイオキシン類濃度を測定計画予定で，一昨年度報告した方法よりも，高い再現性で短時間の間に多数のサンプルを効率的に処理する方法が必要であった．このため血液試料の前処理段階で費やす時間を大幅に短縮するために，以前報告した方法を一部改良した．この方法を用いて，平成14および15年度に，それぞれ279名および269名の油症患者から採取した血液中のダイオキシン類濃度を測定し，以前測定した一般健常人（52名）の結果と比較した．

1．実験方法

（1）試薬

n-ノナンは関東化学社製の試薬特級を，その他の溶媒はすべてダイオキシン分析用（関東化学㈱）を用いた．無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験・PCB分析用（関東化学㈱）を用いた．GC/MSのキャリブレーションスタンダードはWellington Lab.社製のCS-3 C / CP 81を使用した．内部標準物質として^{13}Cでラベルした7種のPCDDs, 10種のPCDFs及び4種のNon-ortho-coplanar-PCBsを使用した．硝酸銀/シリカゲルは和光純薬工業㈱製を使用した．活性炭（ナカライテスク社製）はトルエンで還流精製し，無水硫酸ナトリウムに分散させ用いた（1：1000, w / w）．使用したカラム充塡材（無水硫酸ナトリウム，硝酸銀シリカゲルおよび活性炭硫酸ナトリウム）は高速溶媒抽出装置を用いてヘキサンあるいはトルエン溶媒で脂肪抽出時と同条件下で洗浄した．使用したすべてのガラス器具はダイオキシンクリーンオーブン（アルプ㈱）で450°C（6時間）加熱後，使用した．その他の試薬は市販の試薬特級を用いた．

（2）血液試料からの抽出・精製法

血液中からの脂質の抽出は高速溶媒装置（ASE-200，日本ダイオネクス社製）を用いて行った[6)7)]．血液試料5 gを3 gのIsolute(珪藻土)を充塡した抽出セル中に注入し，約14時間凍結乾燥を行った．クリーンアップスパイクを添加後，抽出セルを装置本体に装着し，温度150°C，圧力2000 psiの条件下で10分間，アセトン/ヘキサン（1：3，v / v）で2回抽出した．得られたアセトン/ヘキサン抽出液を減圧下濃縮し，秤量ビンに移した．溶媒を完全に留去させ，恒量とした後の重量から秤量ビンの風袋重量を差し引いた値を脂質の重量とした．抽出した脂質にn-ヘキサン5 mlを加えて溶解し，濃硫酸3 mlを加えて一夜放置した．そのヘキサン層を10％（w / w）硝酸銀シリカゲルを乾式充塡したカラムに負荷した後，ヘキサン15 mlで溶出させた．その溶出液を0.1％（w / w）活性炭/無水硫酸ナトリウム0.5 gを乾式充塡したカラムに直接負荷させ，ジクロロメタン/n-ヘキサン（1：9，v / v）10 mlでMono -ortho-Co-PCB類を，トルエン25 mlでダイオキシン類（PCDDs，PCDFsおよびNon-ortho-Co-PCBs）を溶出した．得られた両画分は0.5 ml以下に減圧下濃縮した．トルエン画分は風乾後，ジクロロメタンを用いて洗いこみ，その溶液を0.2 mlまで室温で濃縮後，10 μlのn-ノナンを加えたGC / MS用バイアルビンに添加した．ジクロロメタンを室温で完全に留去後，シリンジスパイクを加えて質量分析用試料液とした．

（3）PCDDs，PCDFsおよびCo-PCBsの分析法

血液中PCDDs，PCDFsおよびCo-PCBsの濃度は，大量注入装置(SCLV)を装備した高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置（HRGC/HRMS）を用いて行った[6)7)]．HRGC / HRMSは，GC部はAgilent社製HP-6890 A，MS部はMicromass社製AutoSpec-Ultima NTを使用し，SCLVはSGE社製を使用した．カラムとして，プレカラムにBPX5（SGE社製，内径；0.25 mm；膜厚　0.25 mm；長さ；6 m）および分析カラムにBPX5-Dioxin I（SGE社製，内径；0.15 mm；長さ；30 m）を使用した．昇温条件は，160°C（0分間保持）から300°Cまで20°C / 分で昇温，300°C（8分間保持），70°C / 分で降温，195°C（0.5分間保持）から300°Cまで3°C / 分の割合で昇温，300°C（1分間保持）で行った．試料注入法は，SCLV injectionシステムを用いた．イオン化法はEI法で，イオン源温度とインターフェイス温度は，それぞれ280°Cで，イオン化電圧，イオン化電流および加速電圧は，それぞれ40 eV，750 μAおよび8000 Vに設定し，分解能10000に調整した．キャリヤーガスとしてHeを用い，流速1.3 mL / minで行った．

Selected Ion Monitor（SIM）法によって，PCDDs, PCDFsおよびCo-PCBs類の定量を行った．PCDDs類の定量には，$^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-TCDD，$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDD，$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDD，$^{13}C_{12}$-1,2,3,6,7,8-HxCDD，$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDD，$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD及び$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8,9-OCDDを内標準とした．PCDFs類の定量には，$^{13}C_{12}$-2,3,7,8-TCDF，$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8-PeCDF，$^{13}C_{12}$-2,3,4,7,8-PeCDF，$^{13}C_{12}$-

1,2,3,6,7,8-HxCDF，$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8-HxCDF，$^{13}C_{12}$-1,2,3,7,8,9-HxCDF，$^{13}C_{12}$-2,3,4,6,7,8-HxCDF，$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8, -HpCDF，$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF 及び$^{13}C_{12}$-1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF を内標準とした．また，Non-ortho-Co-PCBs 類の定量には，$^{13}C_{12}$-3,3',4,4'-TCB，$^{13}C_{12}$-3,4,4',5-TCB，$^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5-PeCB および $^{13}C_{12}$-3,3',4,4',5，5'-HxCB を内標準とし，相対検量線法を用いた．検出下限値は厚生労働省の血液中ダイオキシン類の測定分析法（暫定）に記載の脂質中濃度を用いた．

2．結果および考察

新しい油症診断基準を策定するために，平成 14 年度から 3 年計画で全国油症患者血液中ダイオキシン濃度の追跡調査を含めた研究事業が立ち上げられた．初年度は，約 400 人の患者血液中ダイオキシン類濃度を測定計画で，血液試料の前処理段階で費やす時間を大幅に短縮するために，一昨年度報告した方法を一部改良した．血液試料からの脂肪の抽出は，前回同様高速溶媒抽出装置（ASE）を用いて行った[6)7)]．ASE は，温度と圧力を加えることで，抽出目的物の溶媒への溶解度を増大し，従来の液一液抽出法に比べて少量の溶媒で，ソックスレー法や超臨界液体抽出法に匹敵する回収率と再現性が得られる抽出装置として注目されている[8)~11)]．今回，血液試料を ASE で抽出させる前に，血液試料を一昼夜凍結乾燥させことにより，前回まで実施していた無水硫酸ナトリウムによる脱水処理操作を省くことが可能となり，この操作に費やす時間と労力を大幅に軽減することができた．さらに，クリーンアップ時に別々に行っていた硝酸銀カラムおよび活性炭カラムクロマトグラフィーを連結して行うことで，一日に処理するサンプル数を飛躍的に向上することができた．従って，今回改良した方法は一昨年度報告した方法より効率的で迅速な人体暴露評価に対応できる方法であると言える．

ヒト血液中 PCDDs, PCDFs および Co-PCBs 濃度は，環境試料と異なり極めて低濃度である．測定しようとするダイオキシン類は，環境中に存在しているので，試料以外のあらゆるところに分布している．抽出・精製操作中の血液試料をダイオキシン類の汚染から守り，ブランク値を低減化することが，血液中ダイオキシン類分析における最重要課題である．従って，血液中 PCDDs, PCDFs および Co-PCBs 濃度に影響を及ぼさないようにブランク値を定量下限値の 1 / 10 以下に低減化する必要がある．この問題を解決するために，血液試料から PCDDs, PCDFs および Co-PCBs の抽出・精製を行う実験室を専用化した．実験室内もクリーン度を上げるために徹底的に改善した．使用したカラム充塡材（無水硫酸ナトリウム，硝酸銀シリカゲルおよび活性炭硫酸ナトリウム）も高速溶媒抽出装置を用いてヘキサンあるいはトルエン溶媒で脂肪抽出時と同条件下で洗浄したものを用いた．使用したすべてのガラス器具も 450°C，6 時間ダイオキシンクリーンオーブンで加熱して用いた．さらに，前処理法を簡略化し，各溶媒の消費量を可能な限り削減した．以上のことより，PCDDs, PCDFs および Co-PCBs の測定に影響をおよぼさない程度にブランク値を低減化することができた．

今回改良した方法の測定精度を明らかにする目的で，血液 5 検体を調製し，各血液検体中ダイオキシン類濃度の測定を，20 g の試料を用いて公定法に準じて行う測定機関に依頼し，測定結果を比較した（Fig. 1）．その結果，各検体の脂質含量とダイオキシン類濃度は，20 g を用いて公定法で行った測定機関とほぼ同じ値を示した．同じ血清サンプルを用いて 10 週間再現性を検討した結果，高い再現性が得られた（Table 1）．さらに，再現性検討時の内部標準物質の回収率もほとんど 65% 以上であった（Table 2）．以上の結果から，今回改良した方法は，公定法で実施した場合と同等の結果が得られることが示された．

本法を用いて，平成 14 および 15 年度に日本在住の，それぞれ 279 名および 269 名の油症患者から採取した血液中 PCDDs, PCDFs および Co-PCBs 濃度を測定した結果と平成 13 年度に測定した 78 名の福岡県在住の油症患者の測定結果を Table 3 に示す．平成 13 から 15 年度に受診した油症患者の血液中ダイオキシン類の総 toxic quivalent quantity (TEQ) 濃度の平均値は，それぞれ 179.3，136.4 および125.0 pg-TEQ / g lipid で，その濃度は一般健常人のそれぞれ 4.9 倍，3.7 倍および 3.4 倍であった．油症患者の血液中 PCDDs および Co-PCBs 濃度は，ほぼ健常人と同レベルなのに対し，PCDFs 濃度は健常人のそれぞれ 13.8 倍（平成 13 年），10.3 倍（平成 14 年）および 9.5 倍（平成 15 年）高い値を示した．総 TEQ 濃度

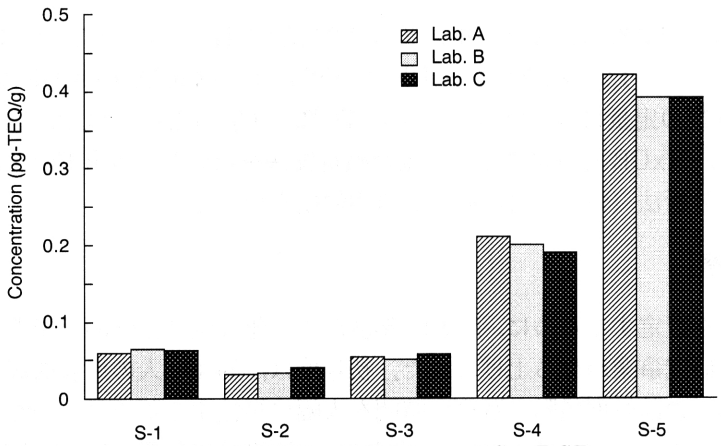

Fig. 1 Comparison of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs concentrations in the five human control blood samples by our laboratory (Lab. A) and two differ dioxin analysis organization (Lab. B and C). Co-PCB: coplanar polychlorinated biphenyls; PCDD: polychlorinated dibenzo-p-dioxins; PCDF: polychlorinated dibenzofurans; TEQ: toxic equivalent quantity. (Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

Table 1 Reproducibility test of the improved method conducted using the same control serum sample for 10 weeks

	Concentration (pg/g lipid)									
	Week									
Congeners	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2,3,7,8-TCDD	1.9	2.0	1.7	1.6	2.0	1.9	1.7	1.9	1.8	1.9
1,2,3,7,8-PeCDD	5.8	6.2	6.7	6.8	6.1	6.4	7.1	7.4	7.3	6.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	7.9	7.9	7.3	7.1	8.1	6.9	8.3	8.0	7.6	6.5
1,2,3,6,7,8-HxCDD	58.4	51.9	57.6	57.9	60.9	57.5	59.5	56.2	54.1	57.0
1,2,3,7,8,9-HxCDD	10.9	9.4	9.1	8.9	10.1	8.5	9.8	9.4	8.8	9.4
1,2,3,4,6,7,8-HeCDD	152.0	151.3	144.5	155.6	142.9	142.7	136.8	132.8	124.2	134.7
OCDD	1804.8	1783.8	1817.8	1785.1	1761.9	1804.8	1852.9	1843.5	1640.5	1887.6
2,3,7,8-TCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	6.0	6.1	5.6	5.1	7.1	6.1	6.1	6.6	5.7	6.2
1,2,3,4,7,8-HxCDF	7.5	7.1	7.2	7.0	7.7	6.4	7.9	7.3	7.7	7.6
1,2,3,6,7,8-HxCDF	7.5	6.6	7.4	7.9	7.7	7.2	7.9	8.2	7.5	7.5
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.8
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HeCDF	15.7	16.7	16.6	17.0	18.0	18.3	18.0	15.5	17.7	18.6
1,2,3,4,7,8,9-HeCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4,4',5-TCB(81)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,3',4,4'-TCB(77)	54.4	44.9	44.8	46.6	46.1	46.9	47.4	45.5	45.0	47.4
3,3',4,4',5-PeCB(126)	28.5	24.9	23.9	25.9	25.9	25.4	23.9	23.4	25.6	23.4
3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	23.6	22.4	22.5	23.5	22.9	22.4	24.5	20.2	23.3	22.8
Total PCDD	2041.7	2012.6	2044.6	2023.1	2028.6	2076.1	2059.3	1844.4	2103.9	2061.9
Total PCDF	44.3	42.5	42.8	43.0	43.7	46.2	46.1	43.0	46.8	47.4
Total PCDD/PCDF	2086.0	2055.1	2087.4	2066.1	2072.3	2122.3	2105.3	1887.4	2150.7	2109.3
Total co-planar PCB	111.5	97.3	96.2	101.1	99.9	99.7	100.9	94.1	98.9	98.6
Total	2197.5	2152.3	2183.6	2167.2	2172.2	2222.1	2206.2	1981.6	2249.6	2207.9
Total PCDDs-TEQ	17.1	16.8	17.4	17.6	17.1	18.1	18.2	17.6	17.5	16.3
Total PCDFs-TEQ	5.1	4.9	4.7	4.5	4.9	5.1	5.3	4.9	5.3	5.3
Total PCDDs/PCDFs-TEQ	22.2	21.7	22.1	22.1	22.0	23.2	23.5	22.5	22.7	21.6
Total coplanar PCBs-T	3.1	2.7	2.6	2.8	2.8	2.8	2.6	2.5	2.8	2.6
Total TEQ	25.3	24.4	24.7	24.9	24.9	26.0	26.2	25.1	25.5	24.2
Lipid (%)	0.27	0.28	0.28	0.27	0.27	0.26	0.26	0.29	0.27	0.27

CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-*p*-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa; He: hepta; ND: less than the determination limit; OCDD: octachlorodibenzo-*p*-dioxin; OCDF: octachlorodibenzofurans; PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin; PCDF: Polychlorinated dibenzofuran; Pe: penta; TCB: tetrachlorobiphenyl; TCDD: tetrachlorodibenzo-p-dioxin; TCDF: tetrachlorodibenzofuran; TEQ: toxic equivalent quantity.
(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

Table 2 Recovery of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs at the reproducibility test

	Recovery (%)									
	Week									
Congeners	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
13C-2,3,7,8-TCDD	70.0	72.8	68.4	84.4	76.7	66.0	70.6	74.4	66.1	57.6
13C-1,2,3,7,8-PeCDD	81.7	92.7	85.2	96.2	85.6	72.0	79.0	86.7	80.6	68.2
13C-1,2,3,4,7,8-HxCDD	100.0	114.2	101.1	111.5	95.6	74.2	91.0	108.0	93.1	81.6
13C-1,2,3,6,7,8-HxCDD	89.6	104.1	89.3	100.0	85.2	67.1	84.7	96.4	87.1	73.9
13C-1,2,3,7,8,9-HxCDD	91.9	102.8	93.9	98.3	89.0	73.5	79.9	92.6	82.1	68.6
13C-1,2,3,4,6,7,8-HeCDD	100.6	111.6	93.3	102.8	84.5	74.7	88.9	108.7	88.7	79.4
13C-OCDD	92.2	101.5	91.7	97.6	81.4	73.5	88.6	106.4	80.9	84.5
13C-2,3,7,8-TCDF	88.2	92.4	83.6	101.6	97.9	79.2	89.8	84.3	87.6	76.0
13C-1,2,3,7,8-PeCDF	72.3	78.4	70.6	80.5	73.6	60.9	69.1	66.6	67.0	56.9
13C-2,3,4,7,8-PeCDF	77.7	82.0	82.1	96.2	84.1	72.6	80.0	83.9	81.5	69.2
13C-1,2,3,4,7,8-HxCDF	86.0	96.7	85.0	95.1	85.5	69.3	82.1	90.4	82.8	72.3
13C-1,2,3,6,7,8-HxCDF	81.4	94.6	81.1	92.8	81.1	67.9	78.8	88.7	77.1	69.8
13C-2,3,4,6,7,8-HxCDF	108.2	113.3	100.9	115.5	96.9	80.2	91.2	98.6	92.7	82.3
13C-1,2,3,7,8,9-HxCDF	104.9	112.1	94.6	100.1	85.5	72.8	86.7	85.1	90.1	75.1
13C-1,2,3,4,6,7,8-HeCDF	91.1	97.1	85.6	93.6	80.1	68.2	80.8	84.1	74.6	74.0
13C-1,2,3,4,7,8,9-HeCDF	96.3	102.1	92.2	98.3	83.5	70.9	89.0	102.7	85.8	79.3
13C-OCDF	83.3	96.5	87.4	95.5	77.2	71.1	85.7	101.7	79.5	80.0
13C-3,4,4',5-TCB(81)	62.2	77.6	70.0	90.6	88.1	64.0	59.1	77.3	62.1	58.2
13C-3,3',4,4'-TCB(77)	64.3	76.3	67.2	89.9	85.0	64.4	63.3	75.8	62.0	57.9
13C-3,3',4,4',5-PeCB(126)	68.0	79.0	71.1	88.1	78.9	64.6	71.4	75.9	70.5	58.2
13C-3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	85.2	90.7	87.5	93.6	87.3	71.6	76.5	86.3	76.2	67.9

CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-*p*-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa; He: hepta; OCDD: octachlorodibenzo-*p*-dioxin; OCDF: octachlorodibenzofurans; PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran; Pe: penta; TCB: tetrachlorobiphenyl; TCDD: tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin; TCDF: tetrachlorodibenzofuran.
(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

に対するPCDDs, PCDFsおよびCo-PCBs濃度の割合を健常人と比較した結果，油症患者の場合，PCDFs濃度が総濃度の約8割を占めていた．PCDFs異性体間で特に高い濃度を示す2,3,4,7,8-PenCDF濃度は，健常人のそれぞれ16.8倍（平成13年），12.6倍（平成14年）および11.6倍（平成15年）高い値を示した．以上の結果から，油症発症から34年経過した現在も患者の血中PCDFs濃度，特に2,3,4,7,8-PenCDF濃度は依然高いレベルにあり，新しい油症診断基準を策定する上で最も重要な要素と考えられる．

今後の検討課題として，血液試料からダイオキシン類の抽出にASEを用いた場合，1,2,3,6,7,8-HpCDD及びOCDDの濃度が公定法で実施した研究機関の結果と比較して，それぞれ1.5倍及び2.0倍高い値を示した．その要因については，まだ明らかにしていないが，1,2,3,6,7,8-HpCDD及びOCDDのtoxic equivalent factor (TEF) 値がそれぞれ0.01及び0.0001と低い値なので，TEQ濃度に換算した場合，これまで大きな影響を及ぼさなかった．しかしながら，この要因についての解明を早急に実施したいと考えている．さらに，患者の身体的負担を軽減させるために，5 g以下の血液量でも，十分測定可能になるようHRGC/HRMSの測定感度を現在よりも向上させたいと思っている．大量注入装置として，SCLV injection systemを用いると，注入した試料中の溶媒がほとんどプレカラムにより除去され，分析目的成分のみがコールドトラップ部で濃縮されるため，通常のスプリットレス方式と比較して，分析カラム内おける初期の試料バンドを狭くすることが可能となる[12]．そのため，各異性体の良好な分離が得られるばかりでなく，ピークの半値幅が狭くなり，ピーク強度が向上した．この原理を応用して，さらに今よりも内径の細い分析用キャピラリーカラムを用いることでピーク強度が向上しS/N比の改善が期待される．この新しいテクニックを現在検討中である．

謝　辞

本研究は2003年度厚生科学研究費補助金（生活安全研究事業部）に負うものである．ここに記して謝意を表します．

Table 3 Concentrations of PCDDs, PCDFs and Co-PCBs in the blood of Yusho patients collected in 2001-2003

	Concentration (pg/g lipid)															
	Yusho patients												Normal controls			
	2001 (n = 78)				2002 (n = 279)				2003 (n = 269)				1997 (n = 54)			
Congeners	Mean	SD	Minim	Maxim	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum	Mean	SD	Minimum	Maximum
2,3,7,8-TCDD	1.8	1.1	ND	4.1	1.7	0.8	ND	4.4	1.7	0.8	ND	5.6	2.1	1.4	ND	8.5
1,2,3,7,8-PeCDD	20.4	11.0	3.3	53.5	11.1	5.9	1.5	46.8	9.7	5.4	ND	45.2	8.8	4.4	1.1	23.5
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.4	1.8	ND	7.7	2.9	1.8	ND	10.8	2.6	1.6	ND	8.5	2.9	1.9	ND	10.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	56.7	43.4	4.4	230.1	53.0	41.7	6.0	290.7	50.4	42.6	3.8	348.5	30.9	14.6	5.9	75.5
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.6	2.3	ND	11.0	5.1	3.8	ND	41.0	3.9	2.7	ND	17.9	4.9	2.8	ND	14.2
1,2,3,4,6,7,8-HeCDD	26.6	20.7	5.4	143.6	63.4	53.7	10.8	556.3	38.6	22.9	8.5	167.2	33.6	16.7	9.0	85.0
OCDD	667.7	750.5	137.5	6226.3	877.2	728.2	172.5	9158.6	763.3	438.9	147.6	3706.1	627.6	557.9	123.8	3060.3
2,3,7,8-TCDF	1.8	2.5	ND	14.4	1.4	0.9	ND	6.3	1.2	0.7	ND	4.9	2.0	1.3	ND	8.2
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	0.9	ND	4.2	0.9	0.8	ND	6.3	0.8	0.7	ND	5.6	1.7	1.0	ND	4.4
2,3,4,7,8-PeCDF	256.1	315.3	6.7	1770.6	192.0	252.1	3.1	1889.7	176.2	240.2	2.6	1953.5	15.2	8.9	3.5	41.7
1,2,3,4,7,8-HxCDF	82.7	117.2	2.0	632.3	59.0	99.6	ND	769.9	52.0	87.2	ND	737.7	8.1	4.9	2.5	22.4
1,2,3,6,7,8-HxCDF	29.7	34.4	ND	176.1	22.4	29.1	ND	210.0	20.4	27.0	ND	231.8	7.4	3.5	ND	16.3
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND				ND				ND				2.0	1.5	ND	5.8
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND				ND				ND				4.0	3.3	ND	13.7
1,2,3,4,6,7,8-HeCDF	3.9	2.3	ND	10.8	3.2	4.0	ND	39.8	2.8	2.6	ND	22.8	7.0	2.7	3.2	13.4
1,2,3,4,7,8,9-HeCDF	ND				ND				ND				ND			
OCDF	ND				ND				ND				4.6	9.1	ND	52.6
3,4,4',5-TCB(81)	5.4	2.3	ND	20.6	5.6	3.1	ND	41.0	5.3	1.8	ND	21.8				
3,3',4,4'-TCB(77)	7.8	4.7	ND	28.5	11.0	7.2	ND	46.1	8.6	6.4	ND	71.8	20.7	14.2	ND	101.1
3,3',4,4',5-PeCB(126)	84.4	58.5	17.8	319.5	103.1	71.7	ND	560.9	98.1	65.3	11.2	531.7	110.5	79.9	11.0	432.9
3,3',4,4',5,5'-HxCB(169	207.1	166.0	31.0	964.0	200.0	154.5	12.7	1131.4	183.8	139.2	12.7	1115.6	57.1	32.9	10.6	135.6
Total PCDD	780	766	177	6423	1014	782	212	9802	870	470	181	3924	706	586	40	3219
Total PCDF	381	461	18	2594	284	375	13	2744	259	352	12	2938	58	45	24	334
Total PCDD/PCDF	1161	840	308	6493	1299	866	232	9886	1129	602	242	3991	758	599	117	3334
Total coplanar PCBs	305	168	66	1006	320	186	28	1220	296	168	37	1218	187	115	42	594
Total	1466	921	373	6822	1618	948	313	10294	1425	703	293	4933	946	665	3621	174
PCDDs-TEQ	28.9	14.0	5.7	70.2	19.5	10.4	3.3	78.5	17.6	9.9	2.2	82.5	15.2	6.3	2.4	35.3
PCDFs-TEQ	139.8	171.8	4.1	966.7	104.6	137.9	2.1	1029.4	95.8	131.1	1.8	1074.4	10.1	5.2	2.7	25.8
PCDDs/PCDFs-TEQ	168.7	180.4	11.7	1036.9	124.1	146.7	5.4	1107.9	113.3	139.7	3.9	1156.9	25.3	11.2	5.1	61.1
Coplanar PCBs-TEQ	10.5	5.8	2.2	32.6	12.3	7.7	0.6	59.4	11.7	6.9	1.4	56.0	11.6	8.2	1.3	44.6
Total TEQ	179.3	180.5	13.9	1049.7	136.4	148.3	7.0	1126.1	125.0	141.2	5.5	1176.6	36.9	17.6	8.5	85.4
Lipid (%)	0.3	0.1	0.2	0.6	0.3	0.1	0.2	0.6	0.4	0.1	0.2	0.6	0.3	0.1	0.2	0.5
Age (years)	65.3	11.2	33.0	84.0	63.6	12.6	30.0	88.0	65.7	11.7	32.0	89.0	40.6	16.9	18.0	81.0

The data from normal contols are cited in the report by Matsueda et al. (7th Symposium on Environmental Chemistry, 4-5 Jun 1998, Kyoto, Japan).
CB: chlorinated biphenyl; CDD: chlorinated dibenzo-*p*-dioxins; CDF: chlorinated dibenzofurans; Hx: hexa; He: hepta; ND: less than the determination limit; OCDD: octachlorodibenzo-*p*-dioxin; OCDF: octachlorodibenzofurans; PCB: polychlorinated biphenyl; PCDD: polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin; PCDF: polychlorinated dibenzofuran; Pe: penta; TCB: tetrachlorobiphenyl; SD: standard deviation; TCDD: tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin; TCDF: tetrachlorodibenzofuran; TEQ: toxic equivalent quantity.
(Journal of Dermatological Science. Suppl., 2005.)

文　　献

1] Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura Y and Masuda Y, editors. Yusho : A human disaster caused by PCBs and related compounds. Fukuoka : Kyushu University Press ; 1996.

2] Iida T, Hirakawa H, Matsueda T and Nakagawa R : Concentrations of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs in blood of 83 patients with Yusho. Fukuoka Igaku Zasshi 88 : 169-176, 1997.

3] Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Takenaka S, Yu ML and Guo YL : Recent trend of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and their related compounds in the blood and sebum of Yusho and Yu Cheng patients. Chemosphere 38 : 981-993, 1999.

4] Takenaka S, Hirakawa H, Nakamura M, Nakagawa R, Iida T and Todaka T : Follow-up survey of dioxins in the blood of Yusho patients (in 1998-1999). Fukuoka Igaku Zasshi 2001 ; 92 : 139-48.

5] Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Nagayama J, Nagata T. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and related compounds : correlations of levels in human tissues and in blood. Chemosphere 38 : 2767-2774, 1999.

6] Todaka T, Hirakawa H, Tobiihi K and Iida T : New protocol for dioxin analysis of human blood. Fukuoka Igaku Zasshi 94 : 148-157, 2003.

7] Iida T and Todaka T : Measurement of dioxins in human blood : Improvement of analytical method. Ind Health 41 : 197-204, 2003.

8) Bautz H, Polzer J and Stieglitz L : Comparison of pressurized liquid extraction with Soxhlet extraction for the analysis of PCDDs and PCDFs from fly ash and environmental matrices. J Chromatogr 815 : 231-241, 1998.

9) McCant DD, Inouye LS and McFarland VA : A one-step ASE extraction method for TCDD TEQ determination. Bull Environ Contam Toxicol 63 : 282-288, 1999.

10) Richter BE, Ezzell JL, Knowles DE and Hoefler F : Extraction of polychlorinated-p-dioxin and polychlorinated dibenzofurans from environmental samples using accelerated solvent extraction (ASE). Chemosphere 34 : 975-987, 1997.

11) Windal II, Miller DJ, Pauw E and Hawthorne SB : Supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction of dioxins from high- and low-carbon fly ash. Anal Chem 72 : 3916-3921, 2000.

12) Matsumura T, Masuzaki Y, Ezaki T, Ohashi M and Morita M : Detection of low femto gram dioxins-Development of column switching-solvent cut large volume/multiple injection cryofocus trap GC-HRMS. 20th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs ; 2000 August 13-17 ; Monterey, California, USA. Organohalogen Compounds 45 : 25-28, 2000.

（参考文献のうち，数字がゴシック体で表示されているものについては，著者により重要なものと指定された分です.）